1833 Lane Medical Library 1898

Über den Einfluss sauerer Nährböden auf die Entwicklung einiger Bakterienarten.

Inaugural-Dissertation

verfasst und der

hohen philosophischen Fakultät

der

K. Bayer. Friedrich-Alexanders-Universität Erlangen

zur

Erlangung der Doktorwürde

vorgelegt von

Heinrich Brodnitz

aus Posen.

Tag der mündlichen Prüfung: 3. Mai 1898.

Erlangen.

Kgl. bayer. Hofbuchdruckerei von August Vollrath.

1898.

Gedruckt mit Genehmigung der philosophischen Fakultät
der Universität Erlangen.

Referent: Herr Professor Dr. M. Reeß.

Seinen teuren Eltern

in kindlicher Liebe

und

seinem Bruder Paul

in Dankbarkeit

zugeeignet.

Der Verfasser.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40153716_0043

Vorliegende Arbeit wurde im pathologisch-anatomischen und bakteriologischen Institut der Universität Erlangen unter Leitung von Herrn Prof. Dr. L. Heim ausgeführt.

Einleitung und Litteraturbesprechung.

Die vorliegende Arbeit sollte ursprünglich darauf abzielen, zu bestimmen, ob durch länger fortdauernde Züchtung auf saueren Nährböden Veränderungen an Bakterien beobachtet werden können, weil Hauser schon in seiner ersten grundlegenden Arbeit über die Proteusarten[1]) gefunden hatte, dass gewisse Wachstumserscheinungen der betreffenden Bakterien für diese Ansicht sprechen. Hauser sagt in seinem eben citierten Werke Seite 64 und 65: „Ich habe gezeigt, dass Proteus mirabilis und Proteus Zenkeri auf sauerer Nährgelatine nur kokkenähnliche Formen und Kurzstäbchen entwickeln, während auf alkalischem Boden bei ersterer Art ausserdem Fäden, Vibrionen, Spirochäten und Spirulinen, bei letzterer wenigstens Fäden, Vibrionen und Spirulinen zur Entwicklung gelangen. Ebenso wird bei erhöhtem Gelatinegehalt der Nährgelatine die Entwicklung der verschiedenen Formen sehr augenfällig beeinflusst.

Endlich aber zeigen diese Untersuchungen, dass auch unter scheinbar absolut gleichen und unveränderten Bedingungen bei ein und der nämlichen Art kleine Abweichungen in der Entwicklung der ganzen Kulturen auftreten können, und dass insbesondere die Form der Zooglöenbildung eine eminent verschiedene sein kann. Denn sowohl bei Proteus vulgaris, als auch bei

[1]) G. Hauser. Über Fäulnisbakterien. Leipzig bei F. C. W. Vogel, 1885.

Proteus mirabilis finden wir bald einfach kugelige, bald korkzieher- oder rankenförmige Zooglöen und das eine Mal beobachten wir ein frühzeitiges Ausschwärmen dieser Zooglöen, während es das andere Mal viel später erfolgt, oder völlig unterbleibt."

„Andererseits aber beweisen gerade die vorliegenden Untersuchungen auch die grosse Beständigkeit der Spaltpilzarten in dem allgemeinen Charakter ihrer individuellen und generellen Eigenschaften. Denn wenn auch z. B. Proteus mirabilis und Proteus Zenkeri auf sauerer Nährgelatine nur kokkenähnliche Individuen und Kurzstäbchen entwickeln, und auch die Entwicklung der Gesamtkultur eine ganz andersartige ist, so tritt bei Rückimpfung auf 5% alkalische Nährgelatine doch immer wieder sofort der ursprüngliche Entwicklungsmodus ein, unter welchem es zur Bildung der verschiedenen Fadenformen, Spirillen u. s. w. kommt, und die ganze Kultur jenes charakteristische Gesamtbild darbietet."

Herr Professor Hauser, dem ich für die Anregung zu dieser Arbeit auch hier meinen besten Dank ausspreche, riet mir, zu prüfen, wie sich das Bakterien-Wachstum auf saueren Nährböden gestalte, insbesondere ob sich durch fortdauernde Züchtung auf ihnen Veränderungen vielleicht bleibender Natur im Aussehen der Bakterien oder in ihrer Art, Kolonien zu bilden, oder in sonstigen Beziehungen, wie z. B. im Verflüssigungsvermögen, erzielen lassen würden. Die Untersuchungen sollten an folgenden sechs Bakterienarten angestellt werden:

Bacterium vulgare. (Proteus vulg.)
Bacterium Zenkeri. (Proteus Zenkeri.)
Bacterium Zopfii.
Bacillus mycoides.
Bacillus subtilis.
Micrococcus s. Staphylococcus pyogenes aureus.

Als ich daran ging, die Untersuchungen auszuführen, lag es mir zuerst ob, festzustellen, bei welchen Säuregraden überhaupt noch ein typisches Wachstum stattfinde. Dabei fand ich, dass man ziemlich weit mit dem Säurezusatz gehen konnte, ohne dass man den Kulturen selbst eine wesentliche Veränderung ansah.

Ferner drängte sich mir die Ansicht auf, dass es eines langen Zeitraumes, vielleicht Monate oder selbst Jahre hindurch bedürfen würde, wenn ich ein endgültiges Urteil über diese Frage bekommen wollte.

Auf Grund der Durchsicht der Litteratur, sowie meiner orientierenden Untersuchungen kam ich dann zu dem Entschluss, dass es sich allein schon lohnen würde, zu untersuchen, welche Säuremengen den genannten Bakterienarten geboten werden dürfen, bis sie an die Grenze ihrer Entwicklungsfähigkeit kämen, und ob sie im stande wären, sich auch auf stark saueren Nährböden derart gut zu entwickeln, dass ihre Lebensfähigkeit längere Zeit hindurch erhalten bliebe.

Über die Entwicklung von Säuren auf Bakterienarten liegt bereits eine grössere Anzahl von Arbeiten vor, aber nur ein Teil von ihnen ist in der von mir gewählten Richtung einschlägig.

In der Veröffentlichung von Maassen[1]), dessen eingehende Versuche die Ernährungsphysiologie der Spaltpilze behandeln und die Zersetzbarkeit der organischen Säuren durch Bakterien zum Gegenstande haben, finde ich, dass einerseits verschiedene organische Säuren, darunter z B. Citronensäure das Wachstum der Bakterien befördern können, und viele Bakterienarten die Fähigkeit besitzen, die Säuren zu zersetzen, die einen in stärkerem, die anderen in schwächerem Grade. Es ist

[1]) Maassen. Beiträge zur Ernährungsphysiologie der Spaltpilze. Die organischen Säuren als Nährstoffe und ihre Zersetzbarkeit durch die Bakterien. Arbeiten aus dem kaiserlichen Gesundheitsamt, Band 12, Seite 340.

diese Erkenntnis für unsere Arbeit wichtig, zumal da Maassen unter der Auswahl der Bakterien, mit denen er arbeitete, vier Arten hatte, die auch bei meinen Versuchen verwendet wurden, nämlich das Bacterium Zopfii, das Bacterium Zenkeri (Proteus Zenkeri), welche aber nirgends ein nennenswertes Wachstum zeigten, ferner das Bacterium vulgare (Proteus vulg.) und den Bacillus subtilis.

Die meisten der von Maassen untersuchten Säuren wurden von den beiden letztgenannten Spaltpilzarten nicht zersetzt; von Proteus vulg. wurde nur Ameisensäure, Acetonsäure, Fumarsäure, Malleinsäure, Akonitsäure und Chinasäure angegriffen, vom Bacillus subtilis wurde Ameisensäure, Acetonsäure, Milchsäure, Apfelsäure und Chinasäure zersetzt. Maassen hatte jedoch die betreffenden Säuren immer in Verbindung mit Basen, meist als Natron-, seltener als Kalisalze verwendet, und die Nährlösung, die er zur Züchtung verwendete, besass meistens nur eine ganz schwach sauere Reaktion, war also vom Neutralpunkt nur wenig entfernt. Unsere Prüfungen sollen sich dagegen auf Nährlösungen erstrecken, denen durch Zusatz von gewissen Säuren eine oft stark sauere Reaktion gegeben worden war.

Wenn ich von den Untersuchungen von Kitasato[1]), Köhler[2]) u. a. absehe, welche die Säurezugabe mehr in der Absicht machten, differentialdiagnostische Momente zur Erkennung des Typhusbakteriums herauszubringen, wenn ich ferner absehe von den Untersuchungen, die die Prüfung der Widerstandsfähigkeit gewisser pathogener Bakterien gegenüber Säuren und Alkalien zum

---

[1]) Kitasato. Über das Verhalten der Typhus- und Cholerabacillen zu säure- oder alkalihaltigen Nährböden. Zeitschrift für Hygiene Band 3, 1888.

[2]) Köhler. Über das Verhalten des Typhusbacillus gegenüber verschiedenen chemischen Agentien, insbesondere Säuren, Alkalien und Anilinfarbstoffen. Dissertation, Rostock 1893.

Gegenstand hatten, wie sie von Behring[1]), v. Lingelsheim[2]), Boer[3]) u. a. vorliegen, so kommen in dem von mir gedachten Sinne nur zwei Arbeiten in Betracht, die über die Entwicklung von Bakterien auf sauerem Nährboden handeln.

Schlüter[4]) zog zwölf Bakterienarten und den Soorpilz in den Bereich seiner Untersuchungen, darunter ist blos eine, nämlich der Micrococcus s. Staphylococcus pyogenes aureus, der auch in meiner Versuchsreihe vertreten ist. Schlüter hatte entweder Gelatine- oder Hausenblasen-Abkochung angesäuert, nachdem sie zuvor auf den Lakmusblauneutralpunkt neutralisiert gewesen war. Die Ansäuerung ging nicht über 1 % hinaus. Der Staphylococcus pyogenes aureus gedieh noch bei 1 % Milchsäure oder Weinsäure, bei 0,15 % Essigsäure und auf dem gewöhnlichen Gelatine-Nährboden, der mit soviel Citronensäure angesäuert worden war, dass 8 ccm sauerer Gelatine durch 4 ccm Natronkarbonatlösung neutralisiert wurden. Da diese Lösung 5,3 g Natronkarbonat in 1 Liter Wasser enthielt, so hatte er eine $^1/_{10}$ Normal-Sodalösung vor sich, und wenn man weiter berechnet, so ergiebt sich, dass Schlüter in diesem Falle eine Nährgelatine benutzte, die pro Liter 50 ccm Normal-Citronensäure unter dem Lakmusblauneutralpunkt enthielt.

Eine weitaus grössere Versuchsreihe setzte Winkler[5])

---

[1]) Behring. Zeitschrift für Hygiene, Band 6, Seite 117. Beiträge zur Ätiologie des Milzbrandes.

[2]) v. Lingelsheim. Zeitschrift für Hygiene, Band 8, Seite 202. Über die milzbrandfeindlichen Wirkungen von Säuren und Alkalien im Blutserum.

[3]) Boer. Zeitschrift für Hygiene, Band 9, Seite 479. Über die Leistungsfähigkeit mehrerer chemischer Desinfektionsmittel bei einigen für den Menschen pathogenen Bakterien.

[4]) Schlüter. Das Wachstum der Bakterien auf saurem Nährboden. Dissertation, Rostock 1892.

[5]) Winkler. Über den Einfluss der Reaktion der Nährböden auf die Entwicklung der Bakterien. Dissertation, Würzburg 1896.

an. In ihr finde ich sämtliche Bakterienarten, mit denen auch ich gearbeitet habe. Das Bact. Zopfii und das Bact. Proteus Zenkeri sind bei Winkler identisch. Winkler ging bei seinen Untersuchungen von einem bis zum Phenolphtaleinneutralpunkt neutralisierten Nährboden aus und hatte infolgedessen schon von vorneherein eine bessere Grundlage wie Schlüter. Aus seinen Zusammenstellungen entnehme ich folgendes:

Micrococcus s. Staphylococcus pyogenes aureus wuchs auf Agar, der bis zum genannten Punkte neutralisiert worden war, ziemlich üppig und auf dem nachher mit 30 ccm Normal-Schwefelsäure angesäuertem Agar noch üppiger als auf dem neutralen. Über eine Farbenveränderung lässt sich deshalb wenig aus den mitgeteilten Versuchen entnehmen, weil die Farbe in jedem Falle als graugelb angegeben ist.

Bact. Zopfii (Proteus Zenkeri) wuchs gleich üppig auf neutralem Agar, wie auf dem mit 10 und 20 ccm Normal-Schwefelsäure angesäuertem Nährboden; bei 30 ccm Säurezusatz wurde ein dünneres grau durchscheinendes Wachstum notiert.

Bact. vulg. (Proteus vulg.) liess bereits auf dem mit 10 und 20 ccm Normal-Schwefelsäure angesäuertem Nährboden eine Beeinträchtigung des Wachstums erkennen und gedieh bei 30 ccm Säurezusatz pro Liter nur noch sehr wenig üppig.

Bac. subtilis wuchs auf allen Nährböden sehr üppig, selbst noch auf dem mit 30 ccm Normal-Schwefelsäure angesäuertem Agar.

Bac. mycoides hatte sein bestes Wachstum auf Agar, der mit 10 oder 20 ccm Normal-Schwefelsäure angesäuert worden war, dagegen ist nach Zugabe von 30 ccm Normal-Schwefelsäure nur noch ein sehr unbedeutendes Strichwachstum notiert.

I. Neutralisierung und Ansäuerung der Nährböden.

Wenn man Versuche über die beregte Frage anstellen will, so muss man von dem möglichst sicheren Neutralpunkt ausgehen, damit die Säuremengen, die man zusetzt, in allen Fällen möglichst gleichmässige werden.

Der Lakmusblauneutralpunkt, eine Bezeichnung, die von Petri und Maassen[1]) herrührt, lässt sich als Ausgangspunkt nicht gut verwenden, weil er nicht scharf genug bestimmt werden kann. Lehmann[2]) hat in seiner „bakteriologischen Diagnostik" die Gründe dafür angegeben, die zweierlei sind: erstens beeinflussen die verschiedenen Lakmuspapiere des Handels das Resultat, und zweitens liegt die Ursache in dem Phosphatgehalt des Nährbodens; phosphathaltige Nährböden geben auch auf demselben Lakmuspapier keine scharfe Endreaktion. Es ist ferner bekannt, das blaues Lakmuspapier schon bei einem Punkte mit starker Bläuung reagiert, wo rotes Lakmuspapier noch keine Farbenveränderung zeigt. Das rote Lakmuspapier ist eben viel weniger empfindlich als das blaue. Darum sprechen Petri und Maassen nur von einem Lakmusblau neutralpunkt.

In Anbetracht dieser Umstände hat auch Winkler nur mit Nährböden gearbeitet, die auf den viel sicherer festzustellenden Phenolphtaleinpunkt neutralisiert worden waren.

Winkler hat seine Untersuchungen blos mit Agar-Nährböden angestellt; den Grund dazu hat er aber nicht weiter dargelegt. Wahrscheinlich ist er durch den Umstand dazu gekommen, dass die Agar-Nährlösung leicht

---

[1]) Arbeiten aus dem kaiserlichen Gesundheitsamt 1892, Band 8, Seite 311.

[2]) K. B. Lehmann und R. Neumann. Atlas und Grundriss der Bakteriologie und Lehrbuch der bakteriologischen Diagnostik, II. Teil, 1896.

und rasch bis zum Phenolphtaleinpunkt zu neutralisieren ist, und weil schon bekannte Grundlagen in der Litteratur dafür vorlagen, von denen Winkler den Vorschlag von N. K. Schultz nennt[1]), die zur Gewinnung eines möglichst gleichmässigen Nährsubstrates 8—10 ccm Normal-Natronlauge weniger zuzusetzen empfahl, als zur vollständigen Neutralisation mit diesem Indikator notwendig ist. Später traten namentlich Petri und Maassen[2]) für die Notwendigkeit der Neutralisation der Bouillon und Timpe[3]) für die Notwendigkeit der Neutralisation der Nährgelatine mit Phenolphtalein ein.

Zuvörderst ist aber ein Gesichtspunkt zu erörtern, dessen grundsätzliche Wichtigkeit erst von Heim[4]) ausgesprochen wurde. Er bezieht sich auf die Thatsache, dass Nährbouillon und Nähragar einerseits, Nährgelatine andererseits wesentlich verschiedene Mengen Alkali bis zur Neutralisierung auf den „Phenolphtaleinpunkt“ brauchen. Heim führte deshalb für die Bezeichnung des Zustandes der mit Alkali noch nicht versetzten Nährlösung den Ausdruck „Nullpunkt“ ein.

Nährbouillon und Nähragar sind, wenn sie auf dem Nullpunkte stehen, bereits geeignet für die Entwicklung einer grossen Reihe von Bakterienarten, Nährgelatine dagegen ist beim Nullpunkt für die meisten Bakterienarten ein ungeeignetes Nährmittel. Es rührt dies davon her, dass die Gelatine selbst von der Fabrikation her bekanntlich ziemlich grosse Mengen von Säuren enthält.

---

[1]) Centralblatt für Bakteriologie, 1891, Band 10, Seite 59.

[2]) Arbeiten aus dem kaiserlichen Gesundheitsamt 1892, Band 8, Seite 311.

[3]) Centralblatt für Bakteriologie, 1894, Band 14, Seite 845.

[4]) L. Heim. Lehrbuch der Bakteriologie. Stuttgart, bei F. Enke, 2. Auflage, 1898, Seite 74, 181, 207.

Wenn man diesen Gesichtspunkt festhält, so ergiebt sich des weiteren, dass man niemals im stande sein wird, mit der gleichen Zahl den gleichen Säuerungs- oder Alkalitätsgrad eines Nährmittels auszudrücken. Dies lässt sich am besten an einem Beispiele erläutern.

Eine Fleischwasser-Pepton-Agarlösung brauchte vom Nullpunkt bis zum Phenolphtaleinpunkt 38,8 ccm Normal-Natronlauge, auf's Liter berechnet. Eine Fleischwasser-Pepton-Gelatinelösung brauchte vom Nullpunkt bis zum Phenolphtaleinpunkt 69,0 ccm Normal-Natronlauge auf's Liter.

Ich hatte bei der Alkalisierung bis zum Phenolphtaleinneutralpunkt bei jeder Nährlösung auch den Punkt bestimmt, bei dem der Lakmusblauneutralpunkt gelegen war.

In der genannten Fleischwasser-Pepton-Agarlösung wurde blaues Lakmuspapier gebläut, nachdem 28,8 ccm Normal-Natronlauge zugesetzt waren, bei der erwähnten Fleischwasser-Pepton-Gelatinelösung trat der Lakmusblauneutralpunkt nach der Zugabe von 46,0 ccm Normal-Natronlauge ein. Daraus ergiebt sich eine Differenz des Lakmusblauneutralpunktes vom Phenolphtaleinneutralpunkte bei der Fleischwasser-Pepton-Agarlösung = 10 ccm Normal-Natronlauge pro Liter, bei der Fleischwasser-Pepton-Gelatinelösung = 23 ccm Normal-Natronlauge pro Liter. Es lässt sich aus dieser Bestimmung weiterhin erkennen, dass es nicht angängig ist, eine Übereinstimmung in der Eigenschaft des Nährbodens als Nährmittel dadurch zu finden, dass man die Prozentsätze feststellt; der Lakmusblauneutralpunkt wurde bei Agar erreicht, nachdem 72 % Normal-Alkali von der im ganzen nötigen Laugemenge zugegeben worden waren, er wurde bei Gelatine bereits erreicht, nachdem 67 % Normal-Natronlauge zugesetzt worden waren.

Infolgedessen muss bei vergleichenden Bestimmungen jeder Nährboden für sich betrachtet werden, und es ist nicht zulässig, die Wachstumsverhältnisse, wie sie auf einer bis zu einem gewissen Reaktionspunkte gebrachten Nährgelatine beobachtet werden, denen auf dem proportional gleich alkalisierten oder angesäuerten Nähragar gegenüberzustellen.

II. Wachstum auf Nährböden mit Ansäuerung nicht bis zum Nullpunkte.

A. Züchtung auf Nährgelatine.

Meine erste Versuchsreihe sollte zeigen, wie das Wachstum auf Nährgelatine von verschiedenem Säuerungsgrad vor sich gehe. Zu dem Zwecke wurde Fleischwasser-Pepton-Gelatine bis zum Phenolphtaleinpunkt neutralisiert, wozu 69 ccm Normal-Natronlauge pro Liter nötig waren. Der Lakmusblauneutralpunkt war bei 46 ccm Normal-Natronlauge erreicht (s. oben). Die Ansäuerung geschah mit Normal-Salzsäure. Eine Anzahl von Gelatineröhrchen erhielt einen Zusatz von 7 ccm, auf den Liter berechnet, eine andere 14 ccm, eine weitere 21 ccm, 30 ccm, 50 ccm, 100 ccm Normal-Salzsäure. Die Ansäuerung mit 7, 14, 21 ccm wurde mit $^1/_{10}$ Normal-Salzsäure, bei den übrigen drei Proben mit Normal-Salzsäure vorgenommen, um hier das Volumen der Nährlösung nicht zu sehr zu vergrössern, wodurch auch der Verdünnungsgrad ungenauer geworden wäre. Die letzte Reihe, die 100 ccm Säure (auf den Liter berechnet) zugesetzt erhalten hatte, war durch blosse Säurewirkung schon vor der Impfung verflüssigt, sie wurde daher nicht weiter verwendet.

Unter den verschiedenen Säurezusätzen sei noch die mit 21 ccm Normal-Salzsäure versetzte Reihe erwähnt, weil sie nahe dem Lakmusblauneutralpunkt lag;

dieser wurde bei 23 ccm Säurezusatz erreicht. Die verschiedenen Reihen dienten zur Anstellung der Züchtungsversuche, die mit den eingangs erwähnten sechs Bakterienarten angestellt wurden. Die nachfolgende Zusammenstellung giebt über die Ergebnisse Auskunft.

Bacterium vulgare (Proteus vulgaris).[1])

Tabelle I.

Impfung vom 18./5. 1897	0 d.h. ohne Säure	7 ccm Norm.HCl pro Liter	14 ccm Norm.HCl pro Liter	21 ccm Norm.HCl pro Liter	30 ccm Norm.HCl pro Liter	50 ccm Norm.HCl pro Liter
19./5.	16 5 darunter breite Strumpfform bis zum Boden	16 4 sonst wie bei 0	Trichterform, obere Partie 15 3	15 3	15 3	4 2
20./5.	Verflüssigung	Verflüssigung	15 5	15 5	15 3	6 3
21./5.	„	„	15 9	15 9	15 9	6 5
22./5.	„	„	15 12	15 10	15 10	8 5
24./5.	„	„	15 15	15 15	15 18	9 6
25./5.	„	„	15 16	15 16	fast ganz verflüssigt	12 7
4./6.	flüssig getrübt	flüssig getrübt	flüssig getrübt	flüssig, oben trüb, unten klar	flüssig getrübt	flüssig klar

[1]) Bei den verflüssigenden Arten habe ich die Art des vom Impfstich ausgegangenen Wachstums in der Weise notiert, das ich die Grösse der schalen- oder trichterförmigen Verflüssigung mit dem aussen an's Reagensglas angelegten Millimeterstabe bestimmte. Die erste Zahl bedeutet den oberen Durchmesser des Verflüssigungsbezirkes (16 oder 15 mm ist die ganze Quere der Gelatinesäule im Reagensglase), die zweite giebt die Tiefe der verflüssigten Zone an.

Bacterium vulgare wuchs auf sämtlichen Nährböden, wenn auch verschieden stark und verschieden rasch, am besten und raschesten bei der bis zum Phenolphtaleinpunkt neutralisierten Gelatine und fast noch besser bei 7 ccm Säure, wenigstens nach dem ersten Tage, nach dem zweiten Tage war bereits beinahe die ganze Gelatinesäule getrübt und zum grössten Teile verflüssigt.

Bei 14 und 21 ccm Säure begrenzte sich die Verflüssigungszone in einer gewissen Höhe, bei 30 ccm Säure war die Verflüssigung ebenfalls noch sehr beträchtlich, und die noch ziemlich feste übrige Gelatine von zahlreichen Bakterienwucherungen durchsetzt; erst bei 50 ccm Säure sah man eine deutliche Beeinträchtigung des Wachstums, indem der Trichter schmaler und seichter erschien.

Demnach verträgt das Bacterium vulgare einen beträchtlichen Säurezusatz bis unter dem Lakmusblauneutralpunkt. Sein Wachstum wird erst deutlich geschwächt, wenn der Säurezusatz über 27 ccm unter dem Lakmusblauneutralpunkt hinabgeht. (Immer auf den Liter Nährflüssigkeit berechnet.)

Nach 17 Tagen war der Inhalt sämtlicher Röhrchen verflüssigt; die meisten zeigten sich durch das Bakterienwachstum getrübt. Das Röhrchen mit 21 ccm Säure pro Liter war nur in der oberen Hälfte trüb, in der unteren klar, die letzte Probe mit 50 ccm Säurezusatz blieb durchweg klar. Dieser Umstand ist jedenfalls mit auf die sommerliche Temperatur zurückzuführen, wahrscheinlich aber auch auf die gleichzeitige Wirkung des peptonisierenden Fermentes, das die Bakterien ausschieden, sodass in der durch den Säurezusatz an und für sich an Erstarrungsvermögen beeinträchtigten Gelatine diese Wirkung schon durch geringste Mengen des Fermentes herrühren konnte, die vielleicht lediglich vom Einsaatmaterial herstammten (vgl. auch die Erklärung der Tabelle beim Bact. proteus Zenkeri).

Bacterium (proteus) Zenkeri.

Tabelle II.

Impfung vom 18./5. 1897	0 d. h. ohne Säure	7 ccm Norm.HCl pro Liter	14 ccm Norm.HCl pro Liter	21 ccm Norm.HCl pro Liter	30 ccm Norm.HCl pro Liter	50 ccm Norm.HCl pro Liter
19./5.	nicht messbares, schwaches Wachstum				—	—
20./5.	schwaches Wachstum an d. Oberfläche und seitlich des Impfstiches in d. oberen Partieen	Wachstum an der Oberfläche scheinbar etw. besser als bei 0	schwache Strichelung nur in den oberen Partien des Impfstiches	Wachstum minimal	—	—
21./5.	wie am 20./5.	graue Oberflächentrübung von Rand zu Rand 2 mm tief	wie bei 7	„	—	—
22./5.	Oberfläch.-wachstum mit grauer Trübung 2 mm tief	unverändert	unverändert	„	—	—
24./5.	„	Wachstum 3 mm tief	„	„	—	—
25./5.	überall unverändert					
4./6.	Gelatine verflüssigt	Gelatine nicht verflüssigt, resp. im Beginn d. Verflüssigung, Oberfläch.-trübung 6 mm	wie bei 7	Gelatine nicht mehr ganz fest. Oberfläch.-trübung	Beginn von Verflüssigung, Delle 6 mm breit, 3 mm tief, grau getrübt	flüssig klar.

Aus der Tabelle geht hervor, dass das Wachstum überhaupt viel geringer war als beim Bacterium vulgare. Das beste Wachstum schien auch hier bei 7 ccm Säurezusatz pro Liter zu liegen. Beim Lakmusblauneutralpunkt hatte dieses Bacterium seine Entwicklungsfähigkeit fast eingebüsst, bei mehr Säurezusatz wuchs überhaupt nichts mehr.

Die nach 17 Tagen beobachteten Verhältnisse sind insofern von Wichtigkeit, weil sie für die Theorie Hauser's sprechen, dass der Proteus Zenkeri ebenso wie der Proteus mirabilis nur physiologische Modifikationen einer einzigen Art seien; denn es lässt sich aus ihnen folgern, dass dem Proteus Zenkeri die Fähigkeit, peptonisierendes Vermögen zu entfalten, nicht durchaus abgehen muss. Die hohe Aussentemperatur hatte bei der Verflüssigung der Gelatine mitgewirkt, aber nicht alle Proben zeigten die Verflüssigung durchweg. In dem Röhrchen mit 21 ccm Säurezusatz war die Gelatine weich geworden, in dem Röhrchen mit 30 ccm Säure war sie teilweise weich, aber teilweise schon verflüssigt. Es geht daraus hervor, dass, wenn die Gelatine bis zu einem gewissen Grade von labilem Gleichgewicht in der Konsistenz gekommen ist, ein möglicherweise stets, aber nur in sehr geringem Maße vorhandenes Peptonisierungsvermögen des Proteus Zenkeri deutlich wird, das in einer festeren, oder höher prozentuierten Gelatinemasse noch lange nicht zum Ausdruck kommt. Es erscheint demnach die Beobachtung, dass Proteus Zenkeri manchmal und ganz unvermittelt ein Peptonisierungsvermögen zeigt[1]), leichter erklärlich, zumal da in Analogie mit der Entfaltung von Stoffwechselprodukten bei Bakterien überhaupt angenommen werden kann, dass die peptonisierende Eigenschaft zu gewissen Zeiten und unter gewissen Bedingungen, die man freilich noch nicht näher kennt, in verschieden hohem Grade hervorzutreten vermag.

---

[1]) Vergl. Hauser über das Vorkommen von Proteus vulg. bei einer jauchig phlegmonösen Eiterung. Münch. med. Wochenschrift, 1892, Seite 103.

Jaeger. Die Ätiologie des fieberhaften Icterus. (Weil'sche Krankheit.) Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten, Band 12, Seite 525.

Bacterium Zopfii.

Tabelle III.

Impfung vom 18./5. 1897	0 d. h. ohne Säure	7 ccm Norm.HCl pro Liter	14 ccm Norm.HCl pro Liter	21 ccm Norm.HCl pro Liter	30 ccm Norm.HCl pro Liter	50 ccm Norm.HCl pro Liter
19./5.	1 mm	1 mm	1 mm	1 mm	1 mm	—
20./5.	graues Oberflächenwachstum bis an die Glasränder 1—2 mm	2 mm	2 mm	1 mm	graue Trübung nicht bis an die Glasränder 3 mm	—
21./5.	Wachstum überall unverändert					—
22./5.	Wachstum überall unverändert					—
24./5.	2 mm	3 mm	4 mm	2 mm	wie am 20./5.	—
25./5.	2 mm	3—4 mm	4 mm	2 mm	„	—
4./6.	Gelatine verflüsssigt, zuoberst graue Trübung					flüssig klar.

Dieser Tabelle zufolge liess sich in Gelatine mit 14 ccm Säurezusatz das meiste Wachstum beobachten, wenn auch die weniger saueren Nährböden kaum geringeres Wachstum zeigten, dagegen war in den sauereren Gelatineproben die Entwicklung durchweg geringer, jedoch immerhin noch in schwachem Maße bis zu 30 ccm Säure vorhanden (= 7 ccm unter dem Lakmusblau-neutralpunkt).

Nach 17 Tagen war in sämtlichen Röhrchen Verflüssigung aufgetreten. Die Ursache ist natürlich auch hier auf die Hitze, die im Anfang Juni herrschte, zurückzuführen. Es ist aber denkbar, dass ähnliche Verhältnisse obwalten, wie beim Proteus Zenkeri, dass ähnlich wie bei mehreren Vertretern der Gruppe der Proteusarten, zu der auch das Bacterium Zopfii gehört, ein unter gewöhnlichen Bedingungen nicht in die

Erscheinung tretendes Peptonisierungsvermögen vorhanden ist, das sich unter gewissen Bedingungen, z. B. wenn die Gelatine eben an der Grenze ihres Erstarrungsvermögens angekommen ist, zu erkennen giebt.

Bacillus mycoides.

Tabelle IV.

Impfung vom 18./5.1897	0 d. h. ohne Säure		7 ccm Norm.HCl pro Liter		14 ccm Norm.HCl pro Liter		21 ccm Norm.HCl pro Liter		30 ccm Norm.HCl pro Liter		50 ccm Norm.HCl pro Liter	
19./5.	3	1	3	1	3	1	2	1	2	1	1	0
20./5.	10	1	6	1	6	2	3	1	2	1	1	1
21./5.	16	2	16	3	16	3	8	2	2	1	1	1
22./5.	16	8	16	7	16	4	16	2	5	2	2	1
24./5.	16	10	16	9	16	8	16	4	5	2	2	1
25./5.	16	15	16	14	16	10	16	6	6	3	3	1
4./6.	ganz verflüssigt und wolkige Trübung								flüssig klar.			

Die Tabelle zeigt ziemlich gleich gutes Wachstum in den drei ersten Reihen, am besten beim Phenolphtaleinneutralpunkt. In der Nähe des Lakmusblauneutralpunktes beginnt das Wachstum merklich nachzulassen. Unterhalb der Verflüssigungszone waren bis zu dieser Grenze gläserbürstenartige Ausstrahlungen zu beobachten, die sich in die noch nicht peptonisierte Gelatinemasse hinein erstreckten.

7 ccm unterhalb des Lakmusblauneutralpunktes, das ist bei 30 ccm Säure, war das Wachstum nur noch gering, noch weniger bei 50 ccm Säure, aber immerhin noch vorhanden.

Der Bacillus mycoides erweist sich demnach gegen Säuren empfindlich, ähnlich wie Bacterium vulgare, aber er lässt sich auch durch hohen Säuregrad nicht vollständig unterdrücken.

Bacillus subtilis.

Tabelle V.

Impfung vom 18./5. 1897	0 d. h. ohne Säure	7 ccm Norm.HCl pro Liter	14 ccm Norm.HCl pro Liter	21 ccm Norm.HCl pro Liter	30 ccm Norm.HCl pro Liter	50 ccm Norm.HCl pro Liter
19./5.	8 5	7 4	11 4	7 3	6 $^1/_2$	2 $^1/_2$
20./5.	12 5	16 5	15 5	12 5	8 1	3 1
21./5.	16 6	16 10	16 8	16 5	10 1	5 1
22./5.	16 9	16 18	16 10	19 9	12 2	5 1
24./5.	ganz verflüssigt	ganz verflüssigt	16 14	16 14	15 9	5 2
25./5.	„	„	16 16	16 15	15 10	7 4
4./6.	„	„	ganz verflüssigt	verflüssigt, obere Hälfte trüb, Mitte Niederschlag, untere Hälfte klar	flüssig klar.	
	Bodenniederschlag					

Das Optimum für den Bacillus subtilis liegt bei 7 ccm Säurezusatz, seine Entwicklungsbreite ist aber sehr gross, denn er zeigte auch noch bei 50 ccm Säure (= 27 ccm unter dem Lakmusblauneutralpunkt) ein, wenn auch mässiges, Wachstum.

Micrococcus (Staphylococcus) pyogenes aureus.

Tabelle VI.

Impfung vom 18./5. 1897	0 d. h. ohne Säure	7 ccm Norm.HCl pro Liter	14 ccm Norm.HCl pro Liter	21 ccm Norm.HCl pro Liter	30 ccm Norm.HCl pro Liter	50 ccm Norm.HCl pro Liter
19./5.	—	—	—	—	—	—
20./5.	3 1 darunter noch schwacher Trichter	4 6 darunter etwas grösserer Trichter	nicht messbar	—	—	—
21./5.	8 16	8 25	5 4	3 1	2 1	—
22./5.	10 20	8 28	6 6	4 10	2 14	—

Micrococcus (Staphylococcus) pyogenes aureus.

Impfung vom 18./5.1897	0 d. h. ohne Säure	7 ccm Norm.HCl pro Liter	14 ccm Norm.HCl pro Liter	21 ccm Norm.HCl pro Liter	30 ccm Norm.HCl pro Liter	50 ccm Norm.HCl pro Liter
24./5.	16 23	13 30	8 7 in der Tiefe nochmal e. trichterförmige Erweiterung	7 15	6 23	—
25./5.	17 24	14 33	10 7 in der Tiefe e. strumpfartige, 5mm breite Verflüssigung bis zum Grunde des Reagensglases	9 20	8 23	—
4./6.	ganz verflüssigt, trübe, gelber Bodensatz				nur bis etwa zur Hälfte getrübt, dort gelber Niederschlag, untere Hälfte klar	kein Wachstum, Gelatine klar und flüssig infolge hoher Aussentemperatur.

Die beiden ersten Reihen lassen es zweifelhaft erscheinen, wo das bessere Wachstum war; der Staphylococcus pyogenes aureus wächst demnach ziemlich gleich gut in Gelatine, die bis zum Phenolphtaleinpunkt neutralisiert ist und in solcher, die 7 ccm Säure enthält. In der Nähe des Lakmusblauneutralpunktes ist das Wachstum schon wesentlich verzögert und vermindert und findet bei stärkeren Säurezusätzen überhaupt nicht mehr statt.

B. **Züchtung auf Nähragar.**

Meine zweite Versuchsreihe betrifft Züchtungen auf Nähragar.

Der Agarnährboden gestattete eine Veränderung in den Bedingungen, die man den Keimen bietet, nach zwei Richtungen hin. Einmal bekommt man nach der

Alkalinisierung einen Nährboden mit geringerem Gehalt an Salzen, weil die gelatinierende Masse ein Kohlehydrat und frei von jeglicher Säure ist, und ferner erlaubt der Agar die Anwendung der Brutschranktemperatur bei der Züchtung.

Von vornherein musste man voraussetzen, dass Bakterienarten, die ihr Temperaturoptimum unterhalb der Körpertemperatur haben, durch die Züchtung auf stark sauerem Nährboden bei 37° doppelt schädlich beeinflusst würden. Ich habe deshalb das Bakterium Zopfii, dessen Temperaturoptimum bei 20° liegt und dessen Entwicklung bei 37° behindert ist, in dieser Versuchsreihe weggelassen.

Dagegen wurde Proteus vulgaris und Proteus Zenkeri, deren Temperaturoptimum etwas höher liegt (etwa bei 24°) zum Versuche verwendet, um zu sehen, ob sich die Annahme bestätigte. Dies war der Fall; beide Bakterienarten zeigten nur in geringem Grade Wachstum, wie die Tabelle VII zeigt, Proteus Zenkeri noch geringer wie Proteus vulgaris.

Der Nährboden wurde möglichst salzarm genommen; ich verwendete statt Fleischwasser einen wässerigen Aufguss von zerhackter, menschlicher Plazenta. Der Plazentawasser-Pepton-Agar brauchte zur Neutralisierung bis zum Lakmusblauneutralpunkt, auf das Liter berechnet, 1,2 ccm und bis zum Phenolphtaleinpunkt 5,8 ccm Normal-Natronlauge. Nach der Neutralisierung bis zum Phenolphtaleinpunkt wurden wiederum verschiedene Mengen Säure zugegeben und zwar, aufs Liter berechnet, 1,5, 3,0, 4,5 ccm Normal-Salzsäure (der Lakmusblauneutralpunkt lag bei 4,6 ccm), ferner 5,5, 7,0 und 10 ccm Normal-Salzsäure. (Der Nullpunkt lag bei 5,8 ccm.) Die Kulturen wurden zwei Tage lang bei 37° gehalten.

Tabelle VII.

Impfung vom 22./5. 1897	0 d. h. ohne Säure	1,5 ccm Norm. HCl pro Liter	3,0 ccm Norm. HCl pro Liter	4,5 ccm Norm. HCl pro Liter	5,5 ccm Norm. HCl pro Liter	7,0 ccm Norm. HCl pro Liter	10,0 ccm Norm. HCl pro Liter
Bact. vulgare .	Wachstum überall schwach						
Bact. Zenkeri .	Wachstum sehr schwach					Wachstum kaum wahrnehmbar	
Bact. mycoides .	Wachstum kräftig				Wachstum noch gut		
Bact. subtilis .	Wachstum kräftig				Wachstum noch gut		
Micrococcus pyog. aurens.	Wachstum überall gut, aber Farbstoffbildung matt.						

Danach waren also die beiden Proteusarten überall schwach gewachsen, Bac. mycoides und Bac. subtilis zeigten kräftiges Wachstum bis zum Lakmusblauneutralpunkt; darunter war das Wachstum zwar weniger kräftig, aber noch bei 10 ccm Säure gut. Staphylococcus pyog. aureus zeigte auf sämtlichen Nährböden gute Entwicklung, aber auch überall nur matte Farbstoffbildung. Die drei letztgenannten Bakterienarten hatten also bei Brutschranktemperatur auch auf stark saueren Nährböden noch verhältnismässig gutes Wachstum erkennen lassen.

Mit den Gelatine-Versuchen liess sich die vorliegende Reihe nicht gut in Parallele bringen, weil sich die Säurezusätze, wie bereits Seite 14—15 dargelegt wurde, nicht vergleichen lassen. Der Nullpunkt ist bei Gelatine-Nährböden ein ganz anderer, als bei den Agarsubstraten. In den verschiedenen Reihen der Gelatine-Versuche war in keinem Falle unter dem Nullpunkte gezüchtet worden. Der grösste Säurezusatz war dort 50 ccm, während der Nullpunkt bei 69 ccm lag.

Die nächste Stufe, die zur Anwendung kam, war 100 ccm Säurezusatz, aber dadurch wurde die Gelatine verflüssigt und zur Züchtung auf festem Nährsubstrat unbrauchbar.

Im allgemeinen aber kann man sagen, dass nicht der Nullpunkt das entscheidende sein muss und ist, sondern der Lakmusblauneutralpunkt, und bei diesem schien sich in der That die relative Intensität des Wachstums annähernd gleich zu verhalten.

Die Säuremenge, mit der ich in dem oben beschriebenen Versuche unterhalb des Nullpunktes gearbeitet hatte, war entschieden zu gering, und ich schloss deshalb noch einen weiteren Versuch mit stark angesäuertem Nähragar an.

Weil aber gerade keine Plazenta vorhanden war, musste ich zu dem salzhaltigerem Fleischwasser-Pepton-Agar greifen, wodurch die Versuchsbedingungen etwas verschieden waren. Die Fleischwasser-Pepton-Agarlösung brauchte vom Nullpunkte bis zum Lakmusblauneutralpunkt 28,8 ccm Normal-Natronlauge, bis zum Phenolphtaleinpunkt 38,8 ccm. Zu dem auf Phenolphtalein neutralisiertem Agar wurden hinzugesetzt pro Liter 10, 40, 70, 100, 150 und 200 ccm Normal-Salzsäure. Zur Beobachtung auf festem, sauerem Nährboden waren lediglich die ersten beiden Proben zu gebrauchen, bei 70 ccm und mehr Säurezusatz trat Verflüssigung des Agar ein.

Es zeigte sich nun, dass auch noch bei einem Zusatz von 40 ccm Normal-Salzsäure, also etwa dem Nullpunkte entsprechend, noch ganz gute Entwicklung zu beobachten war. In den durch die Säuren verflüssigten Agarproben liess sich makroskopisch entweder gar kein, oder nur ein geringes Wachstum, und dies bloss beim Bac. mycoides beobachten. Dem entsprach auch das Ergebnis der mikroskopischen Untersuchung von ge-

färbten Ausstrich-Präparaten, die nach zweitägiger Aufbewahrung der Agar-Röhrchen im Brutschrank angelegt wurden. Die vereinzelten Bakterien in den verschiedenen Präparaten rührten jedenfalls noch von der Aussaat her, und es war offenbar zu keiner Entwicklung gekommen.

Der Bac. mycoides liess zwar noch bei 100 ccm Säurezusatz pro Liter einzelne längere, septierte, peitschenartig geschwungene Fäden erkennen, doch scheint mir auch dieser Befund nicht für eine Vermehrung der eingesäten Keime zu sprechen.

III. Wachstum auf Nährböden mit Ansäuerung unter dem Nullpunkte.

Nachdem sich gezeigt hatte, dass auf den bis zum Phenolphtaleinpunkt alkalisierten und bis nahe zum Nullpunkt wieder zurücktitrierten Nährböden in den meisten Fällen noch Wachstum zu konstatieren gewesen war, lag es in meiner Aufgabe, durch genauere Versuche herauszubringen, ob beim Nullpunkt selbst, resp. wie weit darunter noch eine Entwicklung der in Rede stehenden Bakterienarten stattfinde.

Man konnte dabei natürlich von einer Alkalinisierung bis zum Phenolphtaleinpunkt und Zurücktitrierung mit Säure absehen und die Fleischwasser-Pepton-Nährböden ohne jeden alkalischen Zusatz verwenden.

A. Züchtung auf Nährgelatine.

Auf einer derartigen Nährgelatine wurden drei unserer Bakterienarten gezüchtet, nämlich:

Bacterium (Proteus) vulg.
Bacillus mycoides und
Micrococcus pyog. aureus.

Die Züchtung mit denselben Bakterienarten wurde ferner versucht auf einer Gelatine, der einmal 10,0 und einmal 20,0 ccm Salzsäure, aufs Liter berechnet, zugesetzt worden waren. Der Ausfall dieser Versuchsreihe gestaltete sich folgendermassen:

Tabelle VIII.

Bakterium vulgare.

Impfung vom 19./6. 1897	0 d. h. Nullpunkt	10 ccm Norm. HCl pro Liter	20 ccm Norm. HCl pro Liter
23./6.	17 6 [1])	1 1,5	
25./6.	17 10	9 4	—
26./6.	17 12	16 4 Trichter 30 mm tief	—
	Bacillus mycoides.		
23./6.	9 3 darunter 11 mm tiefer Trichter	—	—
25./6.	16 6 darunter 9 mm tiefer Trichter	—	—
28./6.	16 18	—	—
	Micrococcus pyog. aureus.		
23./6.	1,5 1	—	—
25./6.	8 10	7 5	—
26./6.	15 22	15 8 Trichterende reicht bis 35 mm Tiefe	Gelatine durch Hitze erweicht, später bis 6 mm Tiefe verflüssigt, mit gelben Kulturrasen in dieser Tiefe.

[1]) Bezeichnungen wie Seite 17.

Von den genannten drei Bakterienarten zeigte sich demnach Bacillus mycoides am wenigsten befähigt, auf sauerem Nährboden zu wachsen, mehr Bacterium vulgare, was auch schon aus Tabelle I hervorging; dagegen erwies sich der Micrococcus pyog. aureus dem Bacterium vulgare in dieser Beziehung fast noch überlegen, was nach den in Tabelle VI aufgezeichneten Resultaten nicht zu erwarten war.

B. **Züchtung auf Nähragar und Versuche, die Bakterien an stärkere Säuregrade zu gewöhnen.**

Die Versuche, bei denen die Züchtung auf sauerem Agar stattfand, wurden mit sämtlichen sechs Bakterienarten angestellt; mit Ausnahme von Bact. Zopfii wurden die Röhrchen im Brutschrank gehalten. Die Versuche wurden hier nach zwei weiteren Richtungen hin ausgedehnt:

1. sollte ermittelt werden, ob sich ein Unterschied zeigen würde, je nachdem man die Züchtung auf Agar vornahm, der mit verschiedenen Säuren angesäuert war; zur Verwendung kamen zwei anorganische Säuren, Salzsäure und Salpetersäure, und zwei organische Säuren, Essigsäure und Citronensäure.

2. sollte herausgebracht werden, ob es nicht möglich wäre, die Fähigkeit der Bakterien, auf saueren Nährböden zu wachsen, zu steigern, ob es durch allmähliche Anpassung an die Säure nicht gelänge, die Bakterienarten bei einem Säuregrad zu züchten, bei dem sie auf das erste Mal nicht hatten wachsen können.

Die Zahlen in den betreffenden Tabellen geben an, wieviel Kubikcentimeter Normal-Säure, aufs Liter berechnet, der Agar-Nährlösung zugesetzt worden waren.

Bacterium vulgare.

Tabelle IX. Züchtung v. 19.—25./6. 1897.

Säure-Zusatz pro Liter	Normal-Salzsäure			Normal-Salpetersäure			Normal-Essigsäure			Normal-Citronensäure		
	5 ccm	15 ccm	30 ccm	5 ccm	15 ccm	30 ccm	5 ccm	15 ccm	30 ccm	5 ccm	15 ccm	30 ccm
	+[1]	—	—	+	—	—	+	—	—	+	—	—

Es war somit auf allen Nährböden Wachstum erfolgt, die bloss 5 ccm einer der vier Normal-Säuren, pro Liter berechnet, enthielten, in Röhrchen von 15 ccm Säure nicht mehr. Von den gewachsenen Kulturen wurden auf Agar mit 10 ccm Säure Abimpfungen gemacht. Es erfolgte nur Entwicklung in dem Röhrchen mit Salpetersäure und Citronensäure. Nachdem dies gelungen war, konnte man hoffen, dass sich das fragliche Bakterium auch an noch stärkere Säuregrade gewöhnen liesse. Dies war aber, wie die Ergebnisse lehrten, nur bis zu einem gewissen Grade der Fall. Die Abimpfung von der letzten Kultur auf 15 ccm Säure enthaltenden Agar versagte bei der Salpetersäure, dagegen ging auf Agar mit diesem Gehalt an Citronensäure diesmal noch eine Kultur an. Als dann schliesslich versucht wurde, davon noch auf Agar mit 20 ccm Citronensäure abzuimpfen, blieb der Erfolg aus.

Dagegen wurde hier noch ein weiterer Versuch mit Bouillon angereiht, und die Untersuchung im hängenden Tropfen gemacht. Dabei ergab sich, dass nach allmählicher Gewöhnung selbst noch 40 ccm Normal-Citronensäure unterhalb des Nullpunktes der Bouillon dem Wachstum nicht hinderlich waren. Mikroskopisch

[1]) Das Zeichen + bedeutet Wachstum, das Zeichen — bedeutet, dass kein Wachstum erfolgte.

zeigte sich sogar noch lebhafte Eigenbewegung der Stäbchen; erst bei 50 ccm Citronensäurezusatz hörte das Wachstum auf, es waren nach zweitägiger Beobachtung daselbst nur noch einzelne unbewegliche Stäbchen und Häufchen im hängenden Tropfen zu sehen.

Bakterium (proteus) Zenkeri.

Tabelle X. Züchtung v. 21.—27./6. 1897.

	Normal-Salzsäure			Normal-Salpetersäure			Normal-Essigsäure			Normal-Citronensäure		
Säure-Zusatz pro Lit.	5 ccm	15 ccm	30 ccm	5 ccm	15 ccm	30 ccm	5 ccm	15 ccm	30 ccm	5 ccm	15 ccm	30 ccm
	+	−	−	+	−	−	+	−	−	+	-	−

Diese Tabelle giebt wie die übrigen der vorliegenden Reihe eine Ergänzung zu Tabelle VII. Es zeigte sich, dass der Proteus Zenkeri bis zu einem gewissen Grade, nämlich bei Zusatz von 5 ccm Normal-Säure pro Liter, überall zu wachsen vermag, es gelang aber nicht mehr, ihn bei irgend einer der vier Säuren auch nur an den Zusatz von 10 ccm Säure pro Liter zu gewöhnen.

Bakterium Zopfii.

Tabelle XI. Züchtung v. 23.—30./6. 1897.

	Normal-Salzsäure			Normal-Salpetersäure			Normal-Essigsäure			Normal-Citronensäure		
Säure-Zusatz pro Lit.	5 ccm	10 ccm	15 ccm	5 ccm	10 ccm	15 ccm	5 ccm	10 ccm	15 ccm	5 ccm	10 ccm	15 ccm
	−	−	−	+	−	−	-	+ verspätet	−	+	−	−

Diese Tabelle weist bei Essigsäure 5 ccm eine Lücke auf. Es mag dies ein Ausdruck dafür sein, dass das Wachstum auf saueren Nährböden überhaupt nur schwierig erfolgt, sodass es, wenn einmal zu wenig

wachstumskräftige Keime ausgesät wurden, vorkommen kann, dass die Entwicklung schon bei einem niederen Säuregrad ausbleibt. Möglicherweise ist auch das Ausbleiben des Wachstums auf Agar mit 5 ccm Salzsäurezusatz auf dieses Moment zurückzuführen, sodass vielleicht, wenn mehrere Aussaaten angelegt worden wären, in dem einen oder dem anderen Röhrchen ein Wachstum zu beobachten gewesen wäre.

Im allgemeinen kann man aber sagen, dass den anderen Arten gegenüber das Bacterium Zopfii zu den säureempfindlicheren Arten gehört. Um so interessanter war das Ergebnis des folgenden Anpassungsversuches:

Von der auf 5 ccm Citronensäure gewachsenen Kultur wurde auf ein Röhrchen mit 10 ccm Säure übergeimpft. Binnen zwei Tagen war nun gutes Wachstum zu stande gekommen. Von diesem Röhrchen wurde ein weiteres mit 15 ccm Citronensäure geimpft. Nach zwei Tagen war auch hier Entwicklung eingetreten, und als von dieser Kultur auf Agar mit 20 ccm Säurezusatz übergeimpft wurde, erfolgte nach weiteren 7 Tagen ein, wenn auch verlangsamtes, so doch noch immerhin gutes Wachstum.

Bacillus mycoides.

Tabelle XII. Züchtung v. 18./6.—24./6. 1877.

	Normal-Salzsäure			Normal-Salpetersäure			Normal-Essigsäure			Normal-Citronensäure		
Säure-Zusatz pro Lit.	5 ccm	15 ccm	30 ccm	5 ccm	15 ccm	30 ccm	5 ccm	15 ccm	30 ccm	5 ccm	15 ccm	30 ccm
	+ verspätet	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—

Von den beiden einzigen gewachsenen Kolonien (auf Agar mit 5 ccm Salzsäure und Citronensäure)

wurden Abimpfungen auf stärker angesäuerten Agar vorgenommen. Auf Agar mit 10 ccm Salzsäure blieb das Wachstum aus. Auf Agar mit 10 ccm Citronensäure gelang es, noch eine gute Kultur zu erhalten. Als davon auf ein weiteres Röhrchen mit 15 ccm Säure abgeimpft wurde, erfolgte ebenfalls noch gutes Wachstum.

Der Bacillus mycoides hatte sich also durch allmähliche Anpassung an einen Säuregrad gewöhnt, den er früher nicht vertragen hatte. Damit war aber die Grenze erreicht, denn eine Weiterimpfung auf Agar mit 20 ccm Citronensäure ging nicht mehr an.

Bacillus subtilis.

Tabelle XIII. Züchtung v. 23./6.—29./6. 1897.

	Normal-Salzsäure			Normal-Salpetersäure			Normal-Essigsäure			Normal-Citronensäure		
Säure-Zusatz pro Lit.	5 ccm	10 ccm	15 ccm	5 ccm	10 ccm	15 ccm	5 ccm	10 ccm	15 ccm	5 ccm	10 ccm	15 ccm
	—	—	—	+	·	—	—	—	—	+	—	—

Hier war nur auf salpeter- und citronensäurehaltigem Nährboden Entwicklung erfolgt, während man nach dem Ergebnis, das die Tabelle VII enthält, in Analogie mit anderen Bakterien unserer Reihe ein besseres Resultat, und wenigstens auf Salzsäure ein positives, hätte erwarten sollen. Es dürften hier wohl ähnliche Verhältnisse anzunehmen sein, wie sie beim Bacterium Zopfii vermutet wurden. Von den beiden gewachsenen Kulturen wurde auf einen Nährboden mit 10 ccm Säurezusatz pro Liter übergeimpft. Auf dem Salpetersäure-Agar trat dabei kein Wachstum mehr zu Tage, wohl aber auf Agar mit 10 ccm Citronensäure; eine weitere Abimpfung auf Agar mit 15 ccm derselben Säure versagte.

Micrococcus (Staphylococcus) pyog. aureus.

Tabelle XIV. Züchtung v. 23./6.—30./6. 1897.

	Normal-Salzsäure			Normal-Salpetersäure			Normal-Essigsäure			Normal-Citronensäure		
Säure-Zusatz pro Lit.	5 ccm	10 ccm	15 ccm	5 ccm	10 ccm	15 ccm	5 ccm	10 ccm	15 ccm	5 ccm	10 ccm	15 ccm
	+	+	schwach +	+	+	schwach +	+	+	+	+	+	+

Der gelbe Traubencoccus kommt, was auch durch die Gelatine-Versuche (Tabelle VI) bestätigt ist, auf starken Säuren noch fort. Selbst sein Farbstoffbildungsvermögen hatte auf stärkeren Säuregraden nur wenig gelitten.

Durch successive Weiterzüchtung in der bei den anderen Bakterien beschriebenen Art und Weise ergab sich dann, dass noch Wachstum zu erzielen war bei:

Normal-Säure	20 ccm pro Liter	25 ccm pro Liter	30 ccm pro Liter	35 ccm pro Liter
Salzsäure	+	—	—	—
Salpetersäure . . .	+	—	—	—
Essigsäure	+	+	+	—
Citronensäure . . .	+	+	+	—

Demnach hatte der Staphylococcus pyog. aureus sein Wachstumvermögen länger behalten, wenn er auf organischen Säuren, als wenn er auf anorganischen Säuren gezüchtet worden war. Immerhin waren auch hier die Säuregrade, die er vertrug, noch recht beträchtlich. Die Farbstoffbildung liess sich selbst auf stärkeren Säuregraden noch gut an, mit Ausnahme

von Nährböden mit Salpetersäure von 10 ccm pro Liter an, wo sie blass wurde. Auf gewöhnlichen alkalischen Nährboden nach Monaten zurückgeimpft wurde indes die Farbe der blassen Kultur wieder gut gelb.

Es fragt sich nun, wie dieses Anpassungsvermögen der verschiedenen Bakterienarten zu erklären ist. Mir erscheint es dadurch ermöglicht, dass die Bakterien Alkali bilden. Denn in allen Kulturen von Nährböden mit Säuregehalt liess sich, als sie mehrere Wochen oder Monate nach erfolgter Impfung mit Lakmuspapier geprüft wurden, eine alkalische Reaktion feststellen. Nur eine Ausnahme ist zu verzeichnen. Diese betrifft die Kultur des Staphylococcus pyog. aureus auf salpetersäurehaltigem Nährboden. Auf dem Nährboden mit 20 ccm Salpetersäuregehalt, wo noch ziemlich gutes Wachstum, wenn auch mit blasser Farbe, zu sehen war, fand sich die Reaktion noch sauer. Die Agarprobe mit 5 ccm Salpetersäure war noch eben schwach alkalisch. Es geht daraus hervor, dass der gelbe Traubencoccus ebenfalls Alkali bildet, dass er jedoch, selbst wenn sein Alkalibildungsvermögen nicht mehr hinreicht, die Säure zu neutralisieren, noch bis zu einem gewissen Grade weiter zu gedeihen vermag.

Die Anpassung der Bakterien an die saueren Nährböden hatte sich soweit vollzogen, dass sie nicht bloss für kurze Zeit entwicklungsfähig blieben, sie hatten selbst nach Ablauf von sieben Monaten noch nicht ihre Keimfähigkeit verloren. Ich hatte die Kulturen, die ich Ende Juli auf stark saueren Nährböden erhalten hatte, aufbewahrt.

Zur Sicherung gegen die als schädlich bekannten atmosphärischen Einflüsse waren die Reagensröhrchen abgeschmolzen worden. Am 12. Februar 1898 eröffnete ich die Reagensröhrchen und machte Aussaaten auf

schräg erstarrtem Agar und auf Gelatineplatten. Die Nährböden waren diesmal die gewöhnlichen, bis zum Phenolphtaleinpunkt neutralisierten.

Es ergab sich, dass sämtliche Bakterienarten noch lebensfähig waren und Kulturen bildeten, die sich weder makroskopisch, noch mikroskopisch von dem gewöhnlichen Bilde wesentlich unterschieden.

Schlussfolgerungen.

1. Die untersuchten Bakterienarten sind im stande, selbst noch auf stark saueren Nährböden zu wachsen.
2. Dieses Vermögen ist in den meisten Fällen auf Alkalibildung zurückzuführen, welche die Säure neutralisiert oder abstumpft.
3. Wenn die Grenze für die Möglichkeit des Wachstums auf nicht zu stark saueren Nährsubstraten erreicht ist, so lässt sich dieselbe noch weiter hinausschieben; man kann durch allmähliche Anpassung ein Wachstum auf noch stärker saueren Nährmitteln erzielen.

Am Schlusse meiner Arbeit möge es mir noch gestattet sein, Herrn Prof. Dr. L. Heim in Erlangen für all' die Unterstützung, die er mir im Laufe der Arbeit gütigst hat zukommen lassen, meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

Lebenslauf.

Ich, Heinrich Brodnitz, wurde am 7. Mai 1863 als Sohn des Kaufmannes Max Brodnitz und dessen Ehefrau Luise geb. Weisbein in Posen, Preussen, geboren.

Ich besuchte das dortige humanistische K. Friedrich-Wilhelms-Gymnasium, wandte mich zuerst der kaufmännischen Laufbahn zu und studierte alsdann Zahnheilkunde an den Universitäten Strassburg, Jena, zuletzt Erlangen, wo ich im Jahre 1896 die Approbation als Zahnarzt erwarb.

Seitdem widmete ich mich daselbst dem Studium der Naturwissenschaften, dessen Abschluss vorliegende Arbeit bildet.